



6

2

2

2

# 第4回サケ学研究会プログラムおよび要旨集目次

## Fourth Conference of Salmon Science Society (3S)

日時 平成22年12月18日(土)

場所 北海道大学水産学部 マリンサイエンス創成研究棟1階  
オープンスペース

### 午前の部

10:30 開会・会長挨拶 ----- 帰山 雅秀 (サケ学研究会会長)

ミニワークショップ『野生サケ類の保全に関する研究の現状と将来展望』

コンビナー 帰山 雅秀(北大院水)

10:35 趣旨説明 ----- °帰山 雅秀 (北大院水)

10:40 北海道における野生サケ類の管理の現状と課題 ----- °永田 光博 (さけます内水試)

10:55 北海道におけるサケの自然産卵個体群の分布と遡上時期について

----- °宮腰 靖之 (さけます内水試)

11:20 野生サケ類の遺伝的特性把握とその課題 ----- °阿部 周一 (北大院水)

11:45 植別川におけるサケの人工ふ化魚と自然産卵魚との関係

----- °春日井 潔・宮本 真人・佐々木 義隆・竹内 勝巳・永田 光博 (さけます内水試)

12:10 総合討論

12:35~13:30 昼休み

一般発表 第1部 進行 工藤 秀明 (北大院水) ・宮腰 靖之 (さけます内水試)

13:30 Proteomics on the inviability and sterility in salmonid hybrids (サケ類種間雑種の致死性と不妊性のプロテオミクス) ----- °鄭 亮・阿部 周一 (北大院水)

13:45 ミトコンドリアDNA分析によるカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* 集団構造の年級群間比較 ----- °山田 綾・阿部峻太・越野陽介・工藤秀明・阿部 周一・荒井 克俊・帰山 雅秀 (北大院水)

14:00 遺伝子型と表現型の性が不一致個体であるサクラマスの分布と特性 ----- °山本 俊昭・上原 知江・遠藤 翼 (日獣大)・北西 滋 (立命館大)

14:20 千歳川水系ママチ川の外来種ブラントラウトの生態および生活史 (予報) ----- °河村 博 (さけます内水試)

14:40 カラフトマス回帰親魚における支流単位での母川選択性の年変動 ----- °虎尾 充・永田 光博・佐々木 義隆・春日井 潔・竹内 勝巳 (さけます内水試)

- 15:00 天塩川のアミノ酸組成の年変動がシロザケ親魚の河川水選択行動に与える影響  
 -----°山本 雄三・上田 宏 (北大FSC)
- 15:20 豊平川の河川横断工作物がサケ科魚類の遡上行動に及ぼす影響  
 ----°三好 晃治 (北大院環)・林田 寿文 (寒地土研・北大院環)・坂下 拓・新居 久也・  
 中尾 勝哉 (道栽培公社)・岡本 康寿 (豊平川さけ科学館))・上田 宏 (北大FSC)
- 15:35~15:45 休憩
- 一般発表 第2部 進行 清水 宗敬 (北大院水)・山家 秀信 (東農大生物産業)
- 15:45 洗卵による病原細菌・ウイルスの除去効果および卵内への侵入防止効果  
 -----°吉水 守・笠井 久会(北大院水)・小原 昌和 (長野水試)
- 16:05 麻酔・手術がニジマスに与える生理学的影響  
 -----°林田 寿文 (寒地土研・北大院環)・三好 晃治 (北大院環)・  
 辻 貴敏 (ネットケア)・上田 宏 (北大FSC)
- 16:25 サクラマスへの人為的ストレス及びコルチゾル投与による尿中トリプトファン代謝物  
 の変化 -----°奥平 暁敬・広瀬 隆・鈴木 航・山家 秀信 (東農大生物産業)
- 16:40 カットスロートトラウト卵巣におけるリポタンパクリパーゼファミリー遺伝子の発現  
 解析 -----°柳 蓉沄・田中 莉夏子・笠原 あゆみ・全先 清博・伊東 優太・  
 平松 尚志・東藤 孝・原彰彦 (北大院水)
- 16:55 サクラマスにおける海水適応能の発達とインスリン様成長因子-Iの発現パターン  
 -----下村 考弘・堀越 萌李・中嶋 拓郎 (北大院水)・飯嶋 亜内・卜部 浩一・  
 水野 伸也 (さけます内水試)・平松 尚志・原 彰彦・°清水 宗敬 (北大院水)
- 17:15 NMDAによるヒメマス脳スライスからのsGnRH放出調節 -----°深谷 厚輔・  
 神津 宜久 (北大水)・天野 勝文 (北里大海洋生命)・上田 宏 (北大FSC)
- 17:30 北海道斜里川水系におけるサクラマスのフェロモントラップ試験  
 -----°今川 聖士・富田 太一 (東京農大生物)・  
 藤本 泰文 (宮城県伊豆沼内沼財団)・山家 秀信 (東京農大生物)
- 17:45 サクラマスにおける性フェロモン成分の経時的変化  
 -----°鈴木 航・山家 秀信 (東京農大生物)
- 18:00 閉会 ----- 上田 宏 (北大FSC)

事前申込者は懇親会会場へ各自移動 (JR函館駅前方面, 駅前より徒歩5分強)

19:00 懇親会 ----- 居酒屋ココ大門口 (函館市松風町4-4) TEL:0138-27-0006

**午前の部**

**ミニワークショップ**

**「野生サケ類の保全に関する研究の現状と将来展望」**

**要旨**

## ミニワークショップ

### 野生サケ類の保全に関する研究の現状と将来展望

梶山 雅秀（北海道大学大学院水産科学研究院）

野生サケ類（サケ属魚類）が生態系サービスとしてわれわれ人類に及ぼすベネフィットは、食料としての供給サービスだけではない。物質循環としての支持サービス、生物多様性としての調整サービス、そして環境・情操教育や安らぎとしての文化的サービスとして、この地球生態系に貢献している。わが国のシロザケ野生魚は 1880 年代をピークに、その後減少し続けている。この要因は皮肉なことに人工孵化放流事業の導入と乱獲であり、その減少時期はわが国の河川生態系が著しく攪乱された 1960 年代後半から 1970 年代前半のはるか以前である。北海道における野生シロザケ回復の重要性が叫ばれてから約 15 年が経過しようとしている(梶山 1996, 梶山・真山 1996)。昨今、生態系ミチゲーションから野生サケ類のリハビリテーションへの関心が高まり、それに関連した研究成果がみられるようになってきた。本ミニ・ワークショップでは、北海道における野生サケ類研究の現状の一端を紹介するとともに、その保全と回復に向けた研究の意義とあり方について論議することとしたい。

## ミニワークショップ

### 北海道における野生サケ類の管理の現状と課題

永田 光博（道総研さけます・内水面水産試験場）

これまで北海道のサケ類の資源管理はふ化放流事業を中心に行われてきた。現在、サケ、カラフトマス、サクラマスの3種で総計11.5億尾近いふ化場魚が放流されている。10.1億尾を放流しているサケの漁獲は1970年代後半以降増加し、サケ定置網漁業の繁栄を支えてきた。また、1.3億尾を放流しているカラフトマスの漁獲も1990年代以降急速に回復している。一方で、800万尾を放流しているサクラマスの漁獲は1970年以降減少傾向に歯止めがかかっている。漁業資源を確保するためのふ化放流事業はアラスカ州でも盛んで16億尾のふ化場魚が放流され、カラフトマスとサケで放流効果が認められている。一方で、アラスカ州では野生魚の保全にも積極的で、明確な方針と目標をもって野生魚の管理が行われている。北海道では、放流事業には明確な方針と放流目標が存在するが、野生魚管理の対応は遅れている。北海道漁業協同組合連合会が顧客となって水産エコラベルであるMSC認証をサケ定置網漁業で取得しようと進めているが、そこで問題となっているのは野生魚の管理である。漁業資源としてのふ化場魚の役割に加えて、遺伝資源や生態系サービスとしての野生魚の役割を付加した生態系ベースの管理は、不確実な将来に対して持続可能なサケ類の生産と利用を進めるための重要なキーワードである。ここでは、アラスカ州における野生魚管理と比較しながら北海道の野生資源の管理の現状と課題をまとめてみた。

1. ふ化場魚と野生魚の優先順位 アラスカ州では野生魚が存在する川は可能な限り保全することを前提に、ふ化放流事業の管理が行われてきた。したがって、漁業資源を増やすためのふ化放流事業も、野生魚が多く存在する河川では認められない。これに対して北海道では、ふ化放流事業を中心とした管理が長らく行われ、多くの河川でふ化場魚が放流されてきた。これらの河川は漁業資源を維持する上で重要であり、資源や経済的影響を評価せずに放流河川を縮小することは困難である。したがって、野生魚管理の対象は放流が行われていない河川、あるいは放流は行われているが捕獲が行われていない河川が中心となる。

2. トップダウン管理とボトムアップ管理 アラスカ州では、漁業エリアや遺伝情報をベースに管理ユニットが決められ、その中から抽出した指標河川を中心に河川遡上数などの生物情報を蓄積し、その結果に基づいて最適遡上目標数を決定している。漁業シーズンに入ると、州政府が遡上数をモニターし、遡上数が目標数を超えない場合、漁業規制により遡上数を確保する（トップダウン管理）。北海道では、放流事業のための管理目標（採卵親魚数）は存在し、漁業シーズンには各民間増殖団体が親魚捕獲を担当し、不足の場合は、漁業者の協力を得て自主的規制により捕獲数を確保している（ボトムアップ管理）。これに対して野生魚の管理については、内水面漁業調整規則により全ての河川で親魚の採捕は禁止されているが、管理に必要な野生魚の管理方針がないことから明確な管理目標も存在しない。

3. 今後の方向性 現在、道庁水産林務部漁業管理課において野生魚の管理方針を漁業および増殖団体と協議しながら作成中である。管理方針の中で、野生魚の管理は、ふ化放流事業と同様、地域の漁業および増殖団体による自主的管理として進める予定である。この管理方針に基づいて各地域が管理計画を作成するが、その中には管理目標（遡上数）と管理のルールが記載されることとなる。今回さけます内水試より報告される野生魚に関するデータは、今後野生魚の管理目標を設定する上で貴重な情報を提供することになる。

## ミニワークショップ

### 北海道におけるサケの自然産卵個体群の分布と遡上時期

宮腰 靖之（道総研さけます・内水面水産試験場）

目的 北海道へのサケの来遊数は 1990 年代以降高い資源水準を維持しており、それらの多くは放流魚であるとされる。一方、最近ではサケの自然産卵個体群保全の重要性が指摘されているが、北海道に現存するサケの自然産卵個体群の分布を包括的に調査した事例は見られていない。本研究では、2008 年および 2009 秋に北海道全域の河川におけるサケの自然産卵個体群の有無を調べ、一部の河川においてそれらの遡上・産卵時期を調べ、その結果からサケの自然産卵個体群の今後の研究について考えた。

方法 サケの自然産卵個体群の有無を調べるため、道内の河川のうち流路延長 8 km 以上の約 300 河川を対象として目視による調査を実施した。2009 年には、前年の調査において河川環境が悪化しサケの自然再生産の可能性が極めて低いと考えられた河川を調査対象から除外した。調査では各地区の増殖用サケ捕獲の盛期前後（9～11 月の間）に各河川 1～2 回実施した。各調査河川では 1～8 箇所調査地点を設け、目視で確認できたサケあるいは死骸の個体数と産卵床数を記録した。2009 年には遡上時期を調べるため、道内の 6 河川に延長 250 m の定点を 5～6 箇所設け、9 月から 11 月にかけて毎旬 1 回の踏査を実施して、河川内のサケの個体数の推移を記録した。

結果 現在サケ稚魚の放流を実施していない河川のうち、2008 年が 64 河川（調査河川中の 30.8%）、2009 年が 53 河川（同 35.6%）でサケの自然再生産を確認した。放流は実施しているが捕獲をしていない河川では、2008 年が 51 河川（調査河川中の 89.5%）、2009 年が 44 河川（同 84.6%）でサケの遡上を確認した。北海道における増殖用サケ親魚捕獲河川のうち、2008 年には 191 水系、2009 年は 174 水系でサケの遡上を確認された。

2009 年に遡上時期を調べた河川のうち 4 河川では、沿岸漁獲の終盤あるいは終漁後に河川内でのサケの個体数が増加し、1 河川では沿岸での漁獲開始直後に河川内の個体数が増加した。これらのことから、沿岸漁業の開始前と終了後に遡上するサケが多く残っていることが示唆された。

考察 Kobayashi (1980) は道内の約 200 水系にサケ個体群が存在することを記しているが、約 30 年後に実施した本研究でも 191 水系および 174 水系でサケの遡上を確認した。そのうち比較的規模の大きな河川では増殖目的の稚魚放流が実施されており、稚魚放流が実施されていない河川は小規模の河川が多い。自然産卵サケ個体群を保全する上では中小規模河川の産卵環境を保全することが重要であると考えられる。さらに、現存する自然産卵サケの遡上時期には沿岸漁業が強く影響している可能性が示唆された。沿岸漁業の漁期の前後の時期に調査を実施した場合には、自然産卵個体群がさらに多くの河川で確認できる可能性が高いものと考えられる。

このように本道の多くの河川に自然産卵サケ個体群が残ることが確認された。今後は個体数の定量的な評価、産卵環境、放流魚の迷入、自然産卵個体群の遺伝構造、資源管理手法など、様々なアプローチで野生サケの研究が展開されることを期待する。

## ミニワークショップ

### 野生サケ類の遺伝的特性把握とその課題

阿部 周一（北海道大学大学院水産科学研究院）

全球的温暖化や人間活動による生息環境の破壊進行などにより、冷水性サケ類遺伝資源の存続が懸念されている。また、食料や生物材料の素材として増養殖の対象となっているサケ類では、養殖魚や遺伝子組み換え魚（GMOあるいはLMO）による野生魚の遺伝的汚染や遺伝的攪乱への懸念が現実味を帯びてきた。このように野生サケ類を取り巻く昨今の環境は厳しいものがある。しかし、野生サケ類遺伝資源の保全や管理をどのように進めて行くべきか具体策はまだないように思われる。ここでは、野生サケ類遺伝資源の保全と持続的利用の観点からこれまでに行われてきた遺伝学的研究を紹介し、その成果を概観するとともに、今後の研究にどのように役立てて行けばよいか、展望してみたい。

**遺伝的特性把握の指標** アロザイム、各種ミトコンドリアDNA・核DNA、一塩基多型（SNPs）などの分子遺伝マーカーが遺伝的多様性や遺伝構造などの遺伝的特性の把握の指標として用いられている。遺伝様式や多型性がマーカー間で異なるため、単一のマーカーではなく複数のマーカーを指標として遺伝的特性を評価することが推奨される。

**遺伝的特性に影響する要因** サケ類の生活史は種ごとに異なる。シロサケのように降海型のもの、サクラマスのように降海型と河川残留型の2型をもつもの、カラフトマスのように繁殖が2年周期のため奇数年と偶数年で繁殖集団が明確に分かれるもの、など生活史は多様である。このため、多くの種で、生活史の違いあるいは繁殖様式の違いを反映した遺伝的特性を示すものと考えられている。また、サケ類の遺伝的特性には、現在の分布を形作った過去の集団サイズの変化や棲息場所の変遷に係わる人口学的イベントや地史的イベントも影響していることは疑いない。

**遺伝的特性攪乱とその要因** 人間活動に起因する河川環境の変化による野生集団の縮小や消失がもたらす遺伝的多様性の減少、放流種苗集団における遺伝的多様性の急速な喪失、放流魚との交雑や逃亡養殖魚による遺伝的汚染、さらにはLMOによる野生魚の駆逐、などに大きな懸念が寄せられ、遺伝的汚染についてはタイセイヨウサケにおけるデータの集積も進められている。

**遺伝的特性の保全** 遺伝的多様性の維持を目的とした河川環境（遡上、産卵、生育の場所）の保全や孵化放流の見直し、野生魚との交雑を避けるための養殖魚やLMOの隔離とその遺伝学的・生殖生物学的手法（特に不妊化）の確立、などが提案されている。しかし、従来から提案され、一部の商品化されたサケ類の品種で用いられている倍数体不妊化技術の有効性には異論もある。また、野生集団保全のために提唱されているevolutionary significant unit（ESU）に対する評価も、その曖昧な定義のために提唱以来20年以上も揺れ続けている。

**今後の展望** サケ類が示す遺伝的特性は一様ではない。上述のように、種ごとの遺伝的特性が過去の歴史的なイベントおよび固有の生活史に基づいて現在も起きている遺伝子交流によって影響を受けているとすれば、少なくとも後者の影響を明確に把握することが今後の野生サケ類の保全策立案に役立つだろう。遺伝学的に“野生”と“非野生”を区別する基準はないし、野生サケ類を遺伝学的に定義することも難しい。サケ類の保全と持続的利用のためには、DNAマーカーなどの開発とあわせ、様々な概念の整理と新規構築が必要かも知れない。

## ミニワークショップ

### 植別川におけるサケの人工ふ化魚と自然産卵魚との関係

○春日井 潔・宮本 真人・佐々木 義隆・竹内 勝巳・  
永田 光博（道総研さけます・内水面水産試験場）

北海道のシロサケ *Oncorhynchus keta* は増殖事業の成功によって近年では 3000 万尾を超える来遊が維持されている。これらの資源はほぼ 100%が人工ふ化放流によって支えられていると考えられている。一方、増殖事業の効率化のため、稚魚の放流は行方が親魚捕獲を行わない川（非捕獲・放流河川）が増加しており、サケが自然産卵する機会は増加していると考えられる。しかし、サケの自然再生産に関する知見は少なく、実態は明らかになっていない。

さけます・内水面水産試験場道東支場ではサケの自然産卵の状況や人工ふ化放流魚との回帰状況などの比較を通して自然再生産資源の評価を行うことを目的として、根室管内の非捕獲・放流河川である植別川において 2004 年から調査を行ってきた。この発表では、その調査の概要と結果を紹介したい。

方法 植別川は知床半島の根元に位置し、流程 22.3 km の河川である。毎年 200 万～400 万尾のサケ稚魚を放流する一方で、1998 年を最後に親魚捕獲を中止している。2004～2006 年の 9 月下旬から 12 月中旬にかけて旬 1 回、植別川を河口から上流へ踏査して親魚数と産卵床数の計数を行った。また、産卵床から浮上した稚魚の降下数を推定するため 2005～2007 年の 4 月中旬から 7 月中旬にかけて河口から 1.1 km 上流に設置したロータリー式スクリーントラップによって降下稚魚の採捕を行った。同じ年級のふ化場産のサケ稚魚は、発眼期の卵の耳石に ALC 標識を施し河口から 400 m 上流に位置する植別川ふ化場から放流した。さらに 2004～2006 年級群の植別川への回帰状況を 2007～2010 年の 9 月下旬から 12 月中旬にかけて旬 1 回調査した。回帰した親魚の遡上数および産卵床数を計数するとともに、ホッチャレから鱗と耳石を回収し、年齢査定および標識魚の確認を行った。

結果と考察 2004～2006 年の 3 年間では、親魚の目視尾数の合計は 565～1,663 尾、産卵床の最大数の合計は 128～429 床の範囲をとり、年変動が大きかった。目視尾数および産卵床数は 3 年とも河口から 2 km までに多かった。また、上流で産卵する親魚は早い時期に遡上する傾向があった。稚魚の降下は 4 月中旬から 7 月中旬の長期間にわたり、2005 年は 5 月下旬、2006 年は 5 月上旬および 5 月下旬、2007 年は 5 月中旬および 6 月下旬に降下のピークがあり、年によって異なった。3 年間の降下稚魚数は 33.2～278.5 千尾と大きく変動した。なお、標本として回収した稚魚の耳石は、全て未標識であったことから、降下稚魚は全て自然産卵魚と考えた。2004 年級群由来の親魚は 2007 年(3 歳魚)～2009 年(5 歳魚)に回収され、自然産卵由来の親魚が合計 924 尾であったのに対し、人工ふ化魚は 212 尾と少なかった。両群の河川内回帰率は自然産卵魚が 0.217% (推定降下尾数 425.2 千尾、ただしトラップ下流の自然産卵稚魚の数は産卵床数から推定した) に対し、人工ふ化魚は 0.007% (放流数 3,178 千尾) と低かった。2004 年級群の人工ふ化魚では 3 歳魚が 11 月中旬、4 歳魚が 11 月上旬、5 歳魚が 11 月上旬に遡上のピークがあり、10 月下旬と 11 月中旬の採卵時期を中心に遡上が見られた。一方、自然産卵魚では複数の遡上のピークがあり、人工ふ化場魚に比べて産卵時期が長期間にわたった。標識魚の河川内における発見場所は、ふ化場周辺が多かったが、河口から 7 km 上流でも確認されており、下流で放流されていても上流域へ分布を拡大する可能性があることを示している。これらの結果から植別川における自然産卵魚の一部は人工ふ化魚に由来があると考えられた。

# 午後の部 一般発表 要旨



*Oncorhynchus gorbuscha*

## Proteomics on the inviability and sterility in salmonid hybrids

(サケ類種間雑種の致死性と不妊性のプロテオミクス)

○Liang ZHENG<sup>1</sup>, Yoshie SENDA<sup>2</sup> and Syuiti ABE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Fisheries Sciences, <sup>2</sup> Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University

**Backgrounds and objectives** Understanding the mechanistic nature of hybrid dysfunction, such as inviability and sterility, has entertained naturalist for centuries. During the past decades, genomic and genetic studies have provided growing evidences of chromosome rearrangements (e.g. Johnson et al. 1992), divergence of regulatory transcriptional pathways (e.g. Landry et al. 2005) and disruption in gene expression profiles (e.g. Mavarez et al. 2009), which contribute to many cases of hybrid dysfunction. In this study, the correlation between the alteration in protein expression and hybrid dysfunction was examined in the inter-specific salmonid hybrids, i.e. inviable hybrids between masu salmon and rainbow trout and sterile hybrids between brook trout and masu salmon.

**Materials and Methods** In the inviable hybrids (MR) between masu salmon (Ms) female and rainbow trout (Rb) male, early embryos of the hybrids and age-matched embryos of both parental species served as controls at 9, 12, 15, and 20 days-after-fertilization (daf) were examined for comparison of protein expression patterns on 2-dimensional electrophoresis (2-DE) gels. The differentially expressed protein spots in hybrids during the lethal embryonic stage were chosen for identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight/mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Several functionally important proteins with differential expression were further evaluated using quantitative real-time PCR. In the sterile hybrids (BM) between brook trout (Bt) female and Ms male, total proteins were extracted from the testes of BM, Bt and Ms, and 2-DE based MADLI-TOF MS was performed to explore the differentially expressed proteins by multiple comparisons among BM, Bt and Ms testis proteomes.

**Results and Discussion** Comparative proteomic analysis in embryos of inviable MR hybrids and parental Ms and Rb suggested down-regulation of housekeeping and nucleic acid metabolism-related proteins together with up-regulation of a small number of proteins particularly involved in stress responsive biological processes during the early lethal embryonic stage. Quantitative real-time PCR further supported lowered gene expression profiles of some housekeeping genes in the inviable MR hybrids compared with the viable reciprocal RM hybrids. In the sterile BM hybrids, the most abundant category of disrupted proteins in the abnormally developed testis belongs to primary metabolic process, demonstrating a repression of key cellular function in the sterile hybrid testes. Strikingly, proteins involved in translation machinery were detected with down-expression in the sterile hybrids. In addition, some germ-specific proteins also under-expressed in the BM hybrids, such as DEAD box RNA helicase Vasa. Collectively, the results of these initial studies identified a number of disrupted proteins that are essential during embryogenesis and/or spermatogenesis, thereby strongly implicating a reason for the inviability and sterility in salmonid hybrids.

## 一般発表 第 1 部

### 遺伝子型と表現型の性が不一致個体であるサクラマス分布と特性

○山本 俊昭・上原 知江・遠藤 翼（日本獣医生命科学大）・北西 滋（立命館大）

#### 目的

近年、サケ科魚類において性特異的 DNA マーカー（成長ホルモンの偽遺伝子）が報告され、個体を解剖することなく性判別が可能になった。本研究の対象種であるサクラマスにおいても有効的な手法であることが報告されている一方で、遺伝子型によって判別した性と生殖腺から判別した性が一致しない個体が存在する。本発表では、1) 北海道全域においてサクラマスの遺伝子型と表現型の性が不一致な個体がどこに分布しているのか、2) それら個体の生活史（スモルト期および成熟期の体サイズ）にはどのような特性があるのかを明らかにすることを目的とした。

#### 方法および結果

1) 分布調査は、北海道の 23 河川（日本海側 10 河川・太平洋側 6 河川・オホーツク海側 7 河川）を対象に 547 個体を捕獲して、生殖腺による表現型性と DNA 分析による遺伝子型性を調べた。その結果、517 個体では遺伝子型性と表現型性が一致したものの、30 個体（5%）では一致しなかった。また、性が一致しなかった個体の 87% は表現型性が雌で遺伝子型性が雄であった個体であり、表現型性が雄で遺伝子型性が雌であった個体はわずかであった。これら遺伝子型と表現型の性が不一致な個体は積丹半島から天塩川にかけて出現する傾向が認められた。

2) 表現型と遺伝子型が一致しない個体の生活史特性を明らかにするために厚田川個体群の親魚を用いて解析を行った。厚田川の 6 支流で計 380 個体用いて遺伝子型と表現型の性を調べた結果、表現型がメスで遺伝子型がオスになる個体が 19%（37 個体/199 個体）出現した。また興味深いことに、全支流において不一致の個体のほうが一致する個体よりも成熟体サイズが小さい傾向が認められた。さらに、鱗を用いてスモルト期の体サイズ推定を行ったが、両者の間では有意な差は認められなかった。

#### 考察

遺伝子型と表現型が一致しない個体が日本海側に偏って分布することは、これまで報告されているサクラマスの回遊パターン（日本海側とオホーツク海側）と関連しており、個体群間の遺伝子流動によって成長ホルモンの偽遺伝子を持つ雌の分布が広がっていると考えられた。また、成熟体サイズが小型化することに対して現在そのメカニズムは明らかになっていないが、少なくとも幼魚期およびスモルト期には集団内において小型ではないことが示された。よって海での回遊期において遺伝的な影響を強く受けていることが示唆された。これまで他のサケ科魚類でも遺伝子型と表現型の不一致個体の出現が報告されており、それらの要因として性転換、遺伝的組換え、あるいは性決定遺伝子の非発現などが挙げられている。今後は、これら要因を解明することと、成長が抑制されているメカニズムを明らかにしていきたいと考えている。

ミトコンドリア DNA 分析によるカラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha*  
集団構造の年級群間比較

○山田 綾・阿部 峻太・越野 陽介・工藤 秀明・阿部 周一・荒井 克俊・梶山 雅秀 (北大院水)

背景と目的 カラフトマス *Oncorhynchus gorbuscha* は浮上直後に降海し、18 ヶ月の海洋生活を経て母川へ遡上、産卵し死亡するという一回繁殖型の生活史をとる。そのため奇数年級群 (O 群) と偶数年級群 (E 群) との間で同系交配が行われる機会が極めて少なく、年級群間において遺伝的隔離が起こると考えられており (Heard 1991)、制限酵素を用いたミトコンドリア (mt) DNA 分析によっても両群間で遺伝的分化が認められている (Brykov et al. 1996; Churikov and Gharrett 2002)。

mtDNA の NADH dehydrogenase subunit 5 gene (ND5) 領域は遺伝的多様性に富み (Kitanishi et al. 2007)、cytochrome c oxidase subunit I gene (COI) 領域は種内での保存性が高いと言われている (Rasmussen et al. 2009)。これまで、これらの領域の塩基配列を用いたカラフトマスの年級群間および年級群内の遺伝的差異を比較した研究はみられない。また、日本系カラフトマスにおける年級群間の遺伝的差異を明らかにした研究例はきわめて少ない (岡崎 1991)。本発表では、知床半島ルシャ川に産卵遡上するカラフトマスの①O 群と E 群の集団構造における遺伝的差異、②各年級群内の早期遡上群と後期遡上群の集団構造における遺伝的差異を mtDNA (ND5 および COI 領域) 分析により明らかにする。

材料と方法 標本は、2008 年および 2009 年に知床半島ルシャ川に産卵遡上するカラフトマス親魚 (各 100 個体) の背鰭後部を採集し、100%エタノールで固定したものを用いた。DNA を抽出し、PCR により目的領域 (ND5 領域および COI 領域) を増幅し、シークエンスにより塩基配列を決定した。アライメントを行った後、ハプロタイプを決定した。各ハプロタイプ間の遺伝距離は 2 変数遺伝距離 (Kimura 1980) を基に Phylip-3.69 の DNADIST により算出した。年級群間の遺伝距離は 2 変数遺伝距離 (Kimura 1980) を基に MEGA ver.5 により算出した。各集団内のハプロタイプ多様度、塩基多様度、Pairwise  $F_{st}$  およびハプロタイプネットワークは、Alrequin ver.3.11 を用いて算出した。

結果と考察 mtDNA ND5 領域および COI 領域でそれぞれ 10 種類のハプロタイプが検出され、各領域のハプロタイプネットワークはそれぞれ星型を示した。mtDNA 両領域において、カラフトマス年級群間の Pairwise  $F_{st}$  に有意な差がみられたが ( $P < 0.001$ )、年級群内の早期遡上群と後期遡上群の間には有意な差がみられなかった ( $P > 0.01$ )。このことから、ルシャ川カラフトマス集団の遺伝的分化は年級群間では認められるが、年級群内の遡上群間ではみられないと考えられる。また、mtDNA の進化速度は 1~2%/100 万年 (Brown et al. 1979; Smith 1992) であり、年級群間の遺伝距離が 0.128%であったことから、O 群と E 群間の分岐は更新世後期 6.4~12.8 万年前に生じたと推定される。

## 一般発表 第 1 部

### 千歳川水系ママチ川の外来種ブラウトラウトの生態および生活史（予報）

河村 博（道総研さけます・内水面水産試験場）

はじめに 石狩川支流千歳川に合流するママチ川は石狩低地帯の樽前山火山礫帯を流れる小河川（流程 20.5km, 流域面積 65km<sup>2</sup>）で、その河川勾配は緩やかで湧水性の安定した水温変化（中下流部で 8.6~11.4℃）を示す。河床は火山礫、岩盤、砂、泥から成り、梅花藻の小群落も見られる。ママチ川の魚類相は昭和 40 年代ころ、サクラマス（以下 MS）*Oncorhynchus masou masou* およびアメマス（以下 WC）*Salvelinus leucomaenis* のサケ科魚が主体であったが、昭和 60 年頃よりブラウトラウト（以下 BT）*Salmo trutta* が断続的に放流された結果、最近のそれは MS および BT が優占するようになり、WC はわずかに河川上流部に見られるようになった。BT の原産地ヨーロッパにおける生活は、成熟年齢、降海型の出現、降海年齢など多様性に富むことが知られている。サケ科在来種および外来種の種間関係、特に後者の生態特性を明らかにすることは、外来種 BT の効果的な個体群制御技術を開発する上で基礎的知見となる。ママチ川に生息する BT の生活および生態特性を明らかにすることを目的に調査を実施した。

材料と方法 2009 年 8 月および 2010 年 6 月から 11 月にかけてママチ川の上流部から下流部において釣獲法により魚類を採集した。調査は一定の技術レベルに達した同一人により行い、仕掛けおよび餌（ボクトウガ幼虫 *Cossus jezoensis*）は一定とした。採集個体は現地で魚体測定（FL, cm）と写真撮影、河床材料および河川形態を記録した。9 月のサンプルから胃内容物および生殖腺の発達状態を調べ、生殖腺の外部形状から成熟段階を未熟、発達、成熟に区分した。調査区ごとに比較分布密度（流程 100m あたりの採集個体数、以下 RLD）を求めた。また調査区の BT および MS の釣獲採集個体数の関係を調べるため、両種の RLD の相関関係を統計学的に検定した（Spearman の順位相関係数、 $p=0.05$ ）。

結果と考察 2009 年 8 月および 2010 年 6 月から 11 月までに 15 回の調査で BT : 90 個体、MS : 79 個体を採集した。このほかにニジマス *O. mykiss* を 1 個体採集した(17.3cm)。採集個体の体サイズは BT が大型であった (BT:11.0~30.0cm, MS:9.0~21.2cm)。両種の RLD は調査区ごとに変化し (BT:0.5~3.5, MS:0.5~2.25)、上流部（支流イケジリママチ川）で BT の RLD が高い傾向がうかがえた。BT の MS に対する RLD には有意な負の相関が認められた ( $df=11$ ,  $r=-0.6445$ ,  $p=0.017$ )。9 月~11 月の BT の胃内容物は大型ミミズ類、バッタ類、トンボ類、フクドジョウ *Noemacheilus barbatulus toni*、魚卵（サケ *O. keta*）、ヨコエビ類他が見出された。9 月中旬に雄の一部で精巢の発達が認められたが、11 月下旬まで排精個体は見出されなかった。雌はすべて未熟な状態であった。これらの観察結果から、ママチ川の BT 産卵期は 12 月以後と推察された。9 月下旬の個体で体表の銀白化が強まったが、スモルト化（背鰭と尾鰭先端部の黒化）は認められなかった。同所的に採集した BT と MS との RLD に負の相関が認められたことは調査区の河川形態および河床材料が関係したと考えられ、岩盤河床の平瀬には MS が、蛇行部で水中のカバー（アンダーカット）が豊富な場所では BT が、より多く採集された。今後 BT の成熟時期・産卵環境、降海時期・降海サイズと年齢、降海型の遡上時期、利用餌生物の季節変化、生息場所利用を明らかにする必要がある。

## 一般発表 第 1 部

### カラフトマス回帰親魚における支流単位での母川選択性の年変動

○虎尾 充・永田 光博・佐々木 義隆・春日井 潔・竹内 勝巳（道さけます・内水面水試）

**背景と目的** カラフトマスはサケ科魚類の中では母川回帰性が弱い傾向があるとされ、また2年周期の生活史を持つことから隣り合う年級群で異なる生活史特性を示すことが指摘されている。北海道における漁獲量も隔年で変動し、近年では地域間の差が拡大している。現在カラフトマスのふ化放流事業は母川回帰を前提として河川単位で実施されているが、日本系カラフトマスの母川回帰性に関しては情報が少なく、ふ化放流の効果についても具体的なデータがほとんど無い。放流事業の効果を含めカラフトマスの資源構造の特性を年級群ごとに明らかにすることが必要である。本研究ではカラフトマスの母川選択性に注目し、標識放流によってカラフトマスの支流単位での母川回帰性とその年級群による変動を検証した。

**方法** 本研究は北海道東部根室湾に注ぐ当幌川水系において実施した。放流魚を判別するため偶数年級（2006年採卵、2007年春放流、2008年秋回帰）と奇数年級（2007年採卵、2008年春放流、2009年秋回帰）のカラフトマス放流魚全数に耳石アリザリンコンプレクソン（以下、ALC）標識を施して放流し回帰調査を行った。標識魚は河口から約60km上流の当幌川ふ化場から放流した（偶数年級群；480万尾、奇数年級群；437万尾）。回帰調査は2008年と2009年の7-10月に旬1回、放流場所である当幌川ふ化場排水口を含む当幌川本流の800mの区間と、当幌川ふ化場から11km下流で当幌川に合流する支流サクラ川の合流点から上流800mの区間で行った。調査項目は、親魚の目視計数・産卵後斃死魚（以下、ホッチャレ）計数と尾叉長の測定・発見した全てのホッチャレからの耳石摘出を行った。摘出した耳石は蛍光顕微鏡でALC標識の確認を行った。

**結果** 偶数年級群のカラフトマス親魚の目視尾数の盛期を当幌川とサクラ川で比較すると、当幌川が9月下旬、サクラ川が10月上旬で当幌川の方が1旬早かった。またサクラ川では、偶数年級と奇数年級で目視尾数とホッチャレ発見尾数の盛期が異なっており、奇数年級群で1ヶ月程度早かった。当幌川とサクラ川では標識魚の発見率が大きく異なり、偶数年級群では当幌川で回収したホッチャレ80個体の耳石のうち47個体がALC標識魚であった（標識発見率58.75%）。一方、サクラ川では272個体の耳石を回収し11個体がALC標識魚であった（同4.1%）。奇数年級群ではサクラ川で23個体のホッチャレを回収しそのうち7個体にALC標識が確認された（当幌川では奇数年級群の遡上尾数が少なく標識魚は発見されなかった）。支流サクラ川での標識魚発見率も年級群で大きく異なった。偶数年級群のホッチャレの平均尾叉長は両河川で雌雄ともに標識魚が未標識魚を上回っており、標識魚より遅い時期に小型の未標識魚が多く確認された。また、雌雄ともに奇数年級群の平均尾叉長が偶数年級群より10cm程度大きかった。

**考察** 当幌川の本支流間でカラフトマス目視尾数の盛期に差が見られ、これはサクラ川では標識魚より遅い時期に産卵場に到着し産卵する小型個体の集団が存在することに起因すると考えられた。標識魚の発見尾数は放流河川である本流に多かったことから、この小型の集団とALC標識魚は相互に迷入はあるものの、それぞれサクラ川と本流に選択的に産卵していると考えられ、ふ化放流事業由来の親魚とは独立した再生産が継続的に行われている可能性がある。また、サクラ川での標識魚発見率は偶数年級群と奇数年級群で有意に異なり、母川選択性が年級群によって異なるのかもしれない。

## 一般発表 第 1 部

### 天塩川のアミノ酸組成の年変動がシロザケ親魚の河川水選択行動に与える影響

○山本 雄三・上田 宏（北大フィールド科学センター）

**目的** サケの母川回帰機構は、降河回遊時に稚魚が河川水中のニオイを記憶（母川記銘）し、遡河回遊時に親魚がそのニオイを想起して母川を選択して回帰する嗅覚仮説が広く受け入れられている。演者らはこれまで主にシロザケおよびヒメマスを材料として、嗅覚応答の電気生理学的実験および Y 字水路を用いた選択行動実験により、河川水中の溶存遊離アミノ酸（DFAA）組成がシロザケおよびヒメマスの母川水選択行動に重要であることを明らかにしてきた。しかし、どの程度の DFAA 組成の変化がサケの母川記銘・回帰に影響するかは、未だ不明な点が多い。本研究では、天塩川においてシロザケ稚魚が降河する 5 月、および 4 年後に親魚となり遡河する 9 月の河川水の DFAA 組成に着目し、天塩川に回帰してきたシロザケ雄親魚を用いて、5 月および 4 年後の 9 月の DFAA 組成のデータに基づき作成した人工天塩川水に対する嗅覚応答の電気生理学的実験および Y 字水路を用いた人工河川水の実験を行った。

**材料と方法** 実験魚には 2009 年と 2010 年の 9 月に天塩川に回帰してきたシロザケ雄親魚 (*Oncorhynchus keta*) を用いた。実験水は、稚魚の降河時期である 2005 年と 2006 年 5 月、および親魚の遡河時期である 2009 年と 2010 年 9 月の天塩川の水の DFAA 組成の測定結果に基づき作成した人工天塩川水を用いた。これら 2 組の人工天塩川水に対する嗅覚応答 (EOG) を測定し、さらに Y 字水路における人工河川水に対する選択行動実験を行った。順応水には洞爺湖実験所飼育水を用い、選択行動実験は Y 字水路上流部のどちらか一方から、濃縮人工天塩川水を滴下して、実験魚の選択性を次の 4 種の実験水の組み合わせで調べた。(1)飼育水のみ、(2)降河期の人工天塩川水と飼育水、(3)遡上期の人工天塩川水と飼育水、(4)降河期と遡上期の人工天塩川水。

**結果と考察** 人工天塩川水に対するシロザケの EOG を測定した結果、降河期と遡河期の人工天塩川水に対する嗅覚応答の強度には有意な差が見られ、交差順応試験においても完全に交差順応することはなかった。これは、実験水間で互いに順応していない成分があるためであり、各年の実験水の DFAA 組成の違いを識別していると考えられた。Y 字水路を用いた選択行動実験の結果、(1)の場合、実験魚はランダムに遡上した。(2)の場合、78.3%の実験魚が降河期の人工天塩川水に有意な選択性を示した。(3)の場合、73.1%の実験魚が遡河期の人工天塩川水に有意な選択性を示した。しかし、(4)の場合、42.9%の実験魚が降河期の人工天塩川水を選択し、57.1%の実験魚が遡河期の人工天塩川水を選択し、各年の人工天塩川水に対する選択性に有意な差は認められなかった。以上の結果、シロザケは稚魚の降河期と親魚の遡河期の DFAA 組成において濃度が変わらないアミノ酸を指標にして、母川水のニオイを選択している可能性が推察された。

豊平川の河川横断工作物がサケ科魚類の遡上行動に及ぼす影響

○三好 晃治（北大院環）・林田 寿文（寒地土研・北大院環）・  
坂下 拓・新居 久也・中尾 勝哉（道栽培公社）・岡本 康寿（豊平川さけ科学館）・  
上田 宏（北大 FSC）

背景と目的 遡河回遊魚であるサケ科魚類の多くは、産卵のため限られたエネルギーにより河川を遡上しなければならないため、短時間で効率的に河川を遡上することが重要である。そのため、河川に設置されたダムや堰などの河川横断工作物は、河川遡上時の移動の妨げとなることが危惧されている。札幌市の中心部を流れる豊平川は、シロザケ (*Oncorhynchus keta*) とサクラマス (*O. masou*) が産卵のために遡上する河川として知られている。現在、豊平川には、河床の洗掘を防ぐための治水目的で、7 基の床止工と護床工と呼ばれる河川横断工作物が設置されており、魚道の新設を含めた改修工事が進められている。しかし、改修された床止工と護床工および新設された魚道が、シロザケおよびサクラマスの遡上行動に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで、本研究では、筋電位 (electromyogram: EMG) 発信機を用いたバイオテレメトリー手法により、豊平川の河川横断工作物が、シロザケおよびサクラマスの遡上行動に与える影響を、動物行動学的に解析することを目的とした。

材料と方法 2010 年 9~10 月に豊平川および支流の山鼻川に遡上したシロザケ 9 尾およびサクラマス 6 尾を捕獲し、EMG 発信機 (CEMG; Lotek 社) を外部装着した。流速の調節可能な遊泳水槽を用いて、放流前に全ての個体について EMG 値と遊泳速度のキャリブレーションを行った。その後、5 号床止工・護床工下流および 6・7 号床止工下流から供試魚を放流し遡上行動を追跡した。電波受信機 (SRX\_600; Lotek 社) を用いて、供試魚に取り付けた EMG 発信機から発信される電波により、供試魚の河川内位置情報および EMG 情報を取得した。

結果と考察 シロザケ 6 尾を 5 号護床工下流から放流した結果、2 尾が 5 号護床工および 5 号床止工を遡上した。また、6・7 号床止工下流から放流したシロザケ 3 尾は、全て 6・7 号床止工を遡上した。一方、サクラマス 6 尾を 5 号護床工下流から放流した結果、6 尾全てが 5 号護床工および 5 号床止工を遡上した。そのうち 3 尾はさらに上流の 6・7 号床止工も遡上し、捕獲場所である豊平川の支流、山鼻川までの遡上が確認された。さらに、シロザケ 3 尾とサクラマス 1 尾で遡上行動後に、産卵行動が確認された。また、昨年までのシロザケの遡上行動調査の結果と本研究結果を比較したところ、各床止工遡上中の遊泳速度に大きな変化はみられなかったが、各床止工における滞在時間は減少した。現在、床止工と護床工および魚道周辺の水理条件と、そこを通過した時の供試魚の詳細な行動および遊泳速度と臨界遊泳速度 ( $U_{crit}$ ) との関係について解析中である。

## 一般発表 第 2 部

### 麻酔・手術がニジマスに与える生理学的影響

○林田 寿文 (寒地土研・北大院環)・三好 晃治 (北大院環)・辻 貴敏 (有 ネットケア)・  
上田 宏 (北大フィールド科学セ)

はじめに 魚類に発信機などを装着する場合、麻酔をかけて手術を行うのが一般的であるが、その麻酔・手術後に回復させるための養生時間として通常、24 時間程度が設定されている。河川や湖沼等で実験を行う場合、養生として供試魚を畜養カゴなどに入れるが、その際に供試魚が弱ってしまったり、発信機などが損傷・脱落してしまったりという問題が起きる。また産卵を控えている供試魚は、少しでも早く放流することが望ましい。しかし、麻酔・手術からの養生時間について調べた既往研究はほとんどなく、その生理学的影響は不明な点が多い。

目的と方法 対象魚をニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) として、麻酔・手術終了後にどの程度の時間で、遊泳力が回復するかを把握するために、(独)寒地土木研究所に設置してある流速可変式回流水槽を用いてオス 14 尾、メス 14 尾の合計 28 尾で実験を行った。実験は麻酔・手術から 1 時間後～36 時間後で 6 時間ごとに 5 回の臨界遊泳速度 ( $U_{crit}$ ) を測定し、それに対するニジマスの遊泳能力変化の解析、EMG (electromyogram) 発信機による筋電位の解析、および水質計による  $Do$  消費量の測定を行った。 $U_{crit}$  はニジマスの平均体長約 50cm として  $0.5BL \cdot m/s$  より算出した流速  $V=0.25m/s$  でスタートし、15 分毎に流速を  $V=0.125m/s$  づつ上げていき、ニジマスが可変式回流水槽内の後ろ側の網に張り付くまでの時間を計測し、 $U_{crit} = V_i + (T_i/T_{ii} \times V_{ii})$  ( $V_i$ =張り付いた時の流速(m/s),  $V_{ii}$ =各段階で上げた増分流速(m/s),  $T_i$ =張り付いた流速内での泳いだ時間 (s),  $T_{ii}$ =各段階の時間 (s)) の式により算出した。実験条件は麻酔のみ、麻酔+外科手術 (魚体に EMG 発信機を装着するための穴だけを開けた)、麻酔+EMG 発信機装着の 3 ケースを設定した。

結果 3 ケースの条件に関わらず、麻酔・手術 1 時間後にはニジマスの遊泳能力は十分回復することが明らかになった。1 回目の  $U_{crit}$  測定時には不安定に遊泳していたニジマスが 2 回目以降効率的な遊泳行動を取り、EMG 値からニジマスの学習能力の有無を確認できた。麻酔後 1 時間の  $Do$  消費量は、 $0.75m/s$  で遊泳した場合と同等の酸素を消費していることが判明した。今後は実験に用いられる頻度が高いシロザケなどを対象に同様の実験を行い、ニジマスとの比較などを行うほか、麻酔・手術後の血液成分の把握なども行う予定である。



*Oncorhynchus mykiss*

## 一般発表 第2部

### 洗卵による病原細菌・ウイルスの除去効果および卵内への侵入防止効果

○吉水 守・笠井 久会（北大院水）・小原 昌和（長野水試）

目的 サケ科魚類の種苗生産施設では、卵および施設の消毒ならびに病原体フリーの飼育用水を確保してのふ化飼育を基本とした防疫対策が行われ効を奏している。しかし、伝染性膀胱壊死症や細菌性腎臓病 (BKD), 冷水病など卵を介した垂直伝播が起こる病気に対しての防除対策が求められている。近年、冷水病原菌 (*F. psychrophylum*) の感染成立条件などが明らかになってきたが、感染機序の多くは不明である。今回、感染試験により魚類病原細菌の卵感染機序（時期、経路、条件）を検討した。次いで、BKD や冷水病では病原体による卵表面の濃厚汚染が感染成立の重要な要因であることが明らかとなったことから、内水面の養殖サケ科魚類の人工採卵で実施されている受精率の向上を目的とした等調液洗卵が病原細菌およびウイルスの除去に有効であるかどうか、さらに原因細菌の卵内侵入防止に役立つかどうかを検討した。

方法 授精の有無および *Flavobacterium psychrophylum* 汚染時期が異なる3群のニジマス卵と吸水経過させたニジマス卵の人工感染試験を行い、卵内感染の有無を調べた。次いでニジマス卵を卵表面または環境水汚染の2方法で汚染し ( $10^3 \sim 9$  CFU/ml), 感染の成立条件を検討した。さらにBKD原因菌 (*Renibacterium salmoninarum*), せつそう病原菌 (*Aeromonas salmonicida*) および卵内由来細菌による感染試験を行い、卵内感染の有無を調べ、*F. psychrophylum* および *A. salmonicida* で汚染した卵について、吸水後から発眼期までの間、定期的に卵内から分離を行い、卵内生菌数の変化を調べた。*F. psychrophilum*, *A. salmonicida*, 伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) およびサケヘルペスウイルス (OMV) で表面を汚染したニジマス未受精卵を等調液洗卵（濯ぎ洗卵2回, シャワー洗卵1回）し、各洗卵工程別の除菌・除去量を調べた。さらに、*F. psychrophilum* で汚染したニジマス未受精卵の洗卵方法による卵内感染率の違いを比較するとともに、養魚場の採卵事業において等調液洗卵による卵内感染防除効果を検討した。

結果 未受精卵, 菌汚染後授精した卵および授精後菌汚染した卵で卵内感染がみられ、吸水10分経過までの卵でも卵内感染が観察された。卵内感染は、環境水汚染より卵表面汚染に影響を受け、細菌は卵門から物理的に侵入し、その成立条件は  $10^7$  CFU/ml 以上であった。*R. salmoninarum* および卵由来細菌では卵内感染がみられたが、*A. salmonicida* は吸水直後に卵内侵入が見られたものの感染は成立せず、囲卵腔での生存性が重要な要因となると考えられた。*F. psychrophylum* は発眼期までに  $10^7$  CFU/粒程度まで増加したが、孵化に影響を与えなかった。濯ぎ洗卵1回により  $10^1$  程度、シャワー洗卵により  $10^2$  以上が除菌され、一連の等調液洗卵により  $10^4$  程度の細菌又はウイルスが除菌・除去された。*F. psychrophilum* 汚染卵 ( $10^{9.1}$  CFU/ml) を洗卵することにより、卵表面の生菌数が  $10^{7.8} \sim 10^{6.9}$  に減少し、卵内感染防除効果が認められた。実際の採卵事業においても等調液洗卵後に授精させ、飼育した卵では卵内感染は見られなかった。

## 一般発表 第 2 部

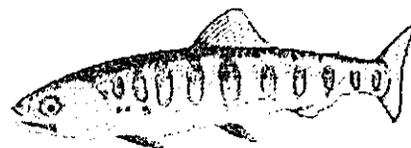
### サクラマスへの人為的ストレス及びコルチゾル投与による 尿中トリプトファン代謝物変化

○奥平 暁敬・廣瀬 隆・鈴木 航・山家 秀信（東京農大生物産業）

背景と目的 サクラマスにおいて、排卵メス尿中に含まれ排精オスを誘引する性フェロモン主成分はトリプトファン代謝物（L-キヌレニン：Kyn）であることが証明されている。本種の排卵メスにおける尿中の Kyn 濃度は 2008 年オホーツク海系養殖魚に比べ 2002 年日本海系養殖魚では著しく高濃度であることが示された。2002 年当時のサンプリング状況を踏まえるとその要因としてストレスが関与している可能性が高い。ヒトの血中キヌレニン濃度はストレスを感じると低下することが示唆されており、一方で、ストレスホルモンであるコルチゾル（F）はトリプトファン 2,3 ジオキシゲナーゼ（TDO）の生合成を促進することから、Kyn 産生を増加させる可能性がある。したがって、サクラマスにおいてもストレスや F がトリプトファン代謝に影響を与えることが考えられる。本研究では、サクラマスの性フェロモン分泌に関して、ストレスまたはそれに起因する血中 F 量の増加が尿中トリプトファン代謝物の濃度に与える影響について調査した。

材料と方法 触診で判別した未排卵メスと排精オスをコントロール群（C 群）、人為的ストレス群（S 群）、コルチゾル投与群（F 群）の 3 群に分け、コントロールチューブおよびコルチゾルチューブ（コルチゾル：3mg /fish）を幽門垂付近にインプラントシタンク内で飼育した（C 群および F 群）。S 群ではチューブ抱理 1 日馴致後、毎日定時にタンクを抜水する方法によりストレスをかけた。全供試魚は無給餌で 14 日間飼育した後、シリンジを用いて採尿し高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりトリプトファン（Trp）、N-ホルミルキヌレニン（F-kyn）、Kyn、3-ヒドロキシ-L-キヌレニン（H-kyn）を分析した。

結果と考察 排卵メス尿中の Kyn 濃度は、C 群に比べ S 群と F 群において高値を示した。一方、Trp、F-kyn、H-kyn 濃度は C 群に比べ F 群において低値を示した。排精オス尿中の Kyn 濃度も C 群に比べ S 群と F 群において高値を示したが、いずれの群においても排卵メス尿中の Kyn 濃度は排精オス尿中濃度の約 2 倍となった。これらの結果から、サクラマスにおいてコルチゾルは TDO の生合成を促進し Kyn 産生を増加させる可能性がある。また、雌雄共に Kyn の産生が活性化されたことにより、他のトリプトファン代謝物の産生に影響を与えた可能性が考えられる。今後、血中の各種ステロイドホルモン濃度を測定し考察に加える他、コルチゾルの濃度やストレス曝露法についても再検討する予定である。



*Oncorhynchus masou*

## 一般発表 第 2 部

### カットスロートトラウト卵巣におけるリポタンパクリパーゼファミリー 遺伝子の発現解析

○柳 蓉沄・田中 莉夏子・笠原 あゆみ・全先 清博・伊東 優太・平松 尚志  
・東藤 孝・原 彰彦 (北大院水)

背景 魚類の卵内には他の卵生動物と同様に、胚発生や稚仔魚の発達に必要な不可欠な様々な物質が卵黄として貯蔵される。これらの物質のなかで脂質は、卵黄の主要な構成成分であるタンパク質とともに、胚の重要なエネルギー源となっている。多くの魚種において脂質は卵内に油球として蓄積され、その構成成分は主にトリアシルグリセロール (TAG) もしくはワックスエステル、ステリルエステルなどの中性脂肪であることが示されている。しかし、油球の元となる脂質が何に由来し、また油球が卵内でどのように形成されるかについてはほとんど明らかにされていない。

材料と方法 そこで本研究では、サケ科魚類のカットスロートトラウト (*Oncorhynchus clarkii*) をモデルとして、卵母細胞への脂質の供給源と考えられる VLDL の代謝に関わる主要な酵素であるリポタンパクリパーゼ (LPL) に着目し、そのファミリー遺伝子のクローニングと卵巣での発現解析を行った。

結果と考察 卵巣から LPL ファミリーの cDNA クローニングを試みた結果、2 種の LPL cDNA (LPL1, LPL2) と 2 種のエンドセリアルリパーゼ cDNA (EL1, EL2) が得られた。各遺伝子について特異プライマーを作製し、リアルタイム RT-PCR 法により各遺伝子の発現量を測定した。まず、様々な体組織における LPL mRNA の発現を調べたところ、LPL1 の発現は脂肪組織で顕著に高く、他に脳、筋肉、卵巣でも確認された。LPL2 においても類似の発現傾向が見られ、卵巣での高い発現が確認された。このことから LPL が、卵巣における脂肪蓄積に重要な役割を担っていることが示唆された。次に卵濾胞組織における発現部位を解析した結果、LPL1 と LPL2 の mRNA は顆粒膜細胞で顕著に発現していることが明らかとなった。さらに卵形成過程に伴う卵巣での発現変化を調べたところ、LPL1 mRNA の発現量は油球形成 (脂質蓄積) が活発になる 4 月に急増してピークを示した。しかし、LPL2 mRNA の発現量は LPL1 のそれと比較すると低値を示した。これらの結果から、サケ科魚類の卵巣において、LPL は主に顆粒膜細胞で発現しており、同細胞でリポタンパク質の代謝を行うことで、卵母細胞への脂質取り込みに重要な役割を担っている事が示唆された。EL mRNA の各体組織における発現は、EL1, EL2 とともに卵巣で著しく高いことが示された。さらに、卵濾胞組織では、EL1, EL2 とともに卵母細胞で高く発現することが明らかになった。これらの結果と、哺乳類では EL がホスホリパーゼ活性を有することが示されていることから、EL は卵母細胞内においてリン脂質を持つピテロジェニンの蓄積・代謝に関与していることが推測された。

## 一般発表 第2部

### サクラマスにおける海水適応能の発達とインスリン様成長因子-I の発現パターン

下村 考弘・堀越 萌李・中嶋 拓郎（北大院水）・飯嶋 亜内・ト部 浩一・  
水野 伸也（道さけます・内水試）・平松 尚志・原 彰彦・清水 宗敬（北大院水）

目的 サクラマスは1年以上を河川で過ごし、春に銀化変態して海水適応能を獲得した後に海へ下る。海水適応能獲得には河川生活期の成長が関与していることが示唆され、本種のふ化放流事業を向上する上で重要であると考えられるが、その相互関係はよく分かっていない。海水適応と成長に共通して関与している内分泌系として、成長ホルモン（GH）-インスリン様成長因子-I（IGF-I）系が挙げられる。GHは脳下垂体から分泌され、主に肝臓に作用してIGF-Iの合成を促す。そして肝臓由来のIGF-Iが血流を介して標的器官に作用すると考えられている。さらに、IGF-Iは局所的にも産生され、その機能を発揮しており注目に値する。しかし、銀化変態時にどの組織由来のIGF-Iがどのような機能を持っているかは不明である。本研究では、サクラマスの銀化変態に伴う肝臓および鰓のIGF-I mRNA量の変化を調べ、海水適応能発達過程への関与を考察した。

材料と方法 供試魚には、北海道総合研究機構さけます・内水面水産試験場道南支場（八雲町熊石）で飼育されているサクラマス幼魚を用いた。2009年11月（0+）から2010年6月（1+）まで、毎月7尾ずつサンプリングを行い、肝臓および鰓試料を採取した。試料からtotal RNAを抽出後、cDNAを調製した。サクラマスのIGF-Iの塩基配列より特異プライマーを設計し、サイバーグリーンを用いたリアルタイム定量PCRによりmRNA量を測定した。内部標準にはEF-1 $\alpha$ を用いた。また、海水適応能の指標である鰓のナトリウム・カリウム-ATPase（NKA）活性を、3月から6月まで測定した。

結果と考察 鰓のNKA活性は3月から4月にかけて上昇し、5月の放流時にピークを示した。肝臓における*igf-1* mRNA量は、12月から2月まで一定量で推移した後、3月に明瞭なピークを示した。そして、4月には減少しその後低値を維持した。鰓の*igf-1*は2月まで低値であったが3月から増加し始め、4月にピークに達した後5月も同程度のレベルを保った後、6月には冬季と同レベルまで減少した。両組織を比較すると、鰓*igf-1*の方がNKA活性に比較的同調していると考えられた。さらに個体における肝臓および鰓の*igf-1* mRNA量と鰓NKA活性の関係を調べたところ、鰓*igf-1*と鰓NKAとの間に正の相関が認められた。以上のことから、局所的に産生される鰓のIGF-Iは海水適応能向上に直接的に関与している可能性が考えられた。肝臓由来のIGF-Iの機能は現在のところ不明であるが、春季の代謝上昇に関与しているかもしれない。

NMDA によるヒメマス脳スライスからの sGnRH 放出調節

○深谷 厚輔・神津 宜久 (北大水)・天野 勝文 (北里大海洋生命)・上田 宏 (北大 FSC)

目的 遡河性サケ科魚類は、河川水のニオイ記憶を想起することにより母川回帰を可能にしていると考えられている。また、サケ科魚類の母川回帰は性成熟と密接に関係し、脳から放出されるサケ型生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (sGnRH) により母川回帰が促進されることが報告されている。一方、哺乳類において *N*-メチル-D-アスパラギン型グルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) が、記憶と学習に深く関与することが知られている。さらに、哺乳類と魚類において NMDA 受容体の選択的アゴニストである NMDA により GnRH ニューロンからの GnRH 放出が促進されることが知られている。サケ科魚類の脳内においても NMDA 受容体が発現しているため、サケ科魚類の母川回帰と NMDA 受容体が密接に関与している可能性がある。そこで本研究では、ヒメマスの脳スライスを用いて、性成熟に伴い、NMDA が sGnRH 放出にどのように影響するかを明らかにすることを目的とした。

方法 実験には洞爺臨湖実験所産のヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) 3 歳魚 (6 月・10 月の各月雌雄 6 個体) を用いた。嗅球系 (OB)・終神経節系 (TN)・終脳-視索前野系 (VT-POA) の sGnRH ニューロンを培養するため、摘出した脳を超低融点アガロースに包埋し、マイクロサイザーを用いて各 400  $\mu$ m の前頭切片 (脳スライス) を作製した。作製した脳スライスは、ショックから回復させた後、5 mM NMDA を加えたサケ脳脊髄液 (対照群はサケ脳脊髄液のみ) で 15 分間培養し、培養液中に放出された sGnRH を時間分解蛍光免疫測定法で測定した。

結果 各部位の脳スライスを 5 mM NMDA 溶液で培養した結果、6 月と 10 月における雌雄の各部位の脳スライスから sGnRH 放出量の増加が確認された。6 月の個体に比べ 10 月の個体では、VT-POA において sGnRH 放出量の有意な増加が確認されたが、OB と TN における放出量の変化は認められなかった。本研究により、ヒメマスの脳において NMDA が、脳部位特異的に sGnRH の放出を調節している可能性が示唆された。

## 一般発表 第 2 部

### 北海道斜里川水系におけるサクラマスの特徴フェロモントラップ試験

○今川 聖士・富田 太一（東京農大生物産業）・藤本 泰文（宮城県伊豆沼内沼財団）・  
山家 秀信（東京農大生物産業）

**背景と目的** サクラマスにおいて、排卵メス尿中に含まれ排精オスを誘引する性フェロモンはトリプトファン代謝物（キヌレニン）であることが証明されている。しかし、実験の都合上、これまでの実験魚は全て継代飼育された池産サクラマスであり、フェロモントラップ等へ応用するには、天然魚におけるキヌレニンの誘引効果を確認する必要がある。斜里川水系にある神の子池は、サクラマス資源の豊富な地域にあり、斜里川の支流を經由し池に繋がる直前に枝川も有するため、自然環境下でフェロモントラップ試験を行うのに大変適している。そこで本研究では、池産サクラマスから同定された性フェロモンが、自然環境下で産卵期にあるサクラマスに作用するか否か検証することを目的とした。

**材料と方法** 試験場所は神の子池のハトイサツル川流出部から数 m 下流にあるその支流とした。2009 年度にキヌレニンによる支流への誘導試験を、2010 年度にキヌレニンとコントロールによる比較試験を行った。誘導試験は滴下装置付のトラップを支流に設置し、 $10^{-3}M/10^{-4}M$  キヌレニンを 1 試験につき 3 日間で約 600 ml 滴下し、捕獲されたサクラマスの尾数を確認した。比較試験は 2009 年度と同じ場所に仕切りを立て Y 字型トラップを造り、河川水で希釈したキヌレニンとコントロール (DW) をトラップからそれぞれ滴下し捕獲された尾数を比較した。キヌレニンとコントロールは 2 日おきに滴下サイドを交換し、キヌレニンの濃度はサクラマスの遡上状態を見て  $10^{-5}M$  から  $10^{-4}M$  に変更した。また、下流域で採捕されたオスをハトイサツル川に放流しフェロモントラップへ誘導されるのか試験した。放流は 2009 年に 10 尾を 1 地点に、2010 年は 30 尾を 3 地点に分けて行った。捕獲したサクラマスから採血し、血中ホルモン濃度を測定した。試験終了後、フェロモントラップ上流にある落ち込みから堰堤までの区間（川幅 40 cm 水深 15 cm 程度）で産卵床と卵の調査を行った。

**結果と考察** 誘導試験では、試験期間を通しオス 6 尾（内 2 尾が放流魚）とメス 1 尾が捕獲された。また、試験開始前は神の子池に 5 尾のサクラマスを確認したが、試験期間中は最大で 2 尾しか確認されなかった。比較試験では、オスが 6 尾（内 1 尾が放流魚）捕獲され、メスは捕獲されなかった。その内、オス 4 尾がキヌレニンを滴下したトラップに捕獲された。それらのオスは全て排精しており、メスは産卵後であった。また試験期間中、神の子池には最大でオス 4 尾メス 3 尾が確認された。血中ホルモン濃度はテストステロン (T)、11 ケトテストステロン (KT)、最終成熟ホルモン (DHP) が高値を示し、産卵期のサクラマスであることが示唆された。これらの結果から、キヌレニンは自然環境下のサクラマスにも作用している可能性があると考えられる。

サクラマスにおける性フェロモン成分の経時的変化

○鈴木 航・山家 秀信（東京農大生物産業）

背景と目的 サケ科魚類のサクラマスでは、排卵メス尿中に含まれるトリプトファン代謝物（L-キヌレニン：Kyn）がフェロモン主成分であることが証明されている。2009 年においてオホーツク海系養殖魚の排精早熟オスを用いた行動実験では、Kyn を含めたトリプトファン代謝物への行動反応に経時的変化が見られた（未発表）。そこで本研究では、本種の排卵メス尿に含まれるトリプトファン代謝物について経時的分析を行い、フェロモン分泌パターンの詳細を明らかにすることを目的とした。

材料と方法 さけます・内水面水産試験場道南支場の日本海系養殖魚と中標津の民間養殖業者から提供されたオホーツク海系養殖魚を用いた（合計 N=3）。それらメス親魚からカテーテルを用いて 8 時間毎に分けて 24 時間尿を 1 週間以上採取した。尿サンプルの pH 値を pH 試験紙で測定し、1 日置きに未排卵メスの腹部を触診することで排卵確認を行った。成熟メス尿（未排卵～排卵）に含まれるトリプトファン代謝物 [トリプトファン (Trp), N-ホルミルキヌレニン (F-kyn), L-キヌレニン (Kyn), 3-ヒドロキシキヌレニン (H-kyn)] を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析した。

結果と考察 両系群において、未排卵期は H-kyn が多く含まれていた。オホーツク海系養殖魚では排卵期に近づくにつれ H-kyn が減少した。一方、日本海系養殖魚ではオホーツク海系養殖魚とは異なり未排卵期から排卵期にかけて H-kyn は減少せず排卵期に Trp と共に上昇した。また、両系群ともに排卵期に近づくにつれ Kyn と F-kyn が上昇する頃に尿の pH 値は減少した。

本実験から、サクラマスにおいて未排卵から排卵にかけて性フェロモン成分の経時的変化が示唆された。他の動物においても同様の報告がある。例えば、昆虫のノンネマイマイ *Porthetria monacha* のメスの性フェロモンは羽化後に増加し産卵後に減少する。また、アジアゾウ *Elephas maximus* のオスが放出する警報フェロモンは年齢に応じてフロンタリンの異性体比が変化する。以上により、サクラマスは性フェロモンであるトリプトファン代謝物の組成を変化させながら利用している可能性が考えられる。今後、分析個体数を増やすと共に、成熟メス以外の各成熟段階の尿中トリプトファン代謝物の経時的変化も明らかにしていく。

# サケ学研究会

*Salmon Science Society (3S)*

名称:

「サケ学研究会」

会費

会費は、当面年額 500 円とする。

事務局:

北海道大学大学院水産科学研究院

組織と役員

(組織)

遺伝学部門

生態学部門

生理学部門

増殖資源部門

事務局

(役員)

目的:

サケ科魚類の科学に関する学術研究・情報の交流と普及を図り、その学術研究の発展に寄与することを目的とする。

事業:

本研究会は、目的を達成するために次の事業を行う。

1. 研究発表会および学術講演会等の開催
2. ホーム・ページの開設
3. 関連学会との連絡および協力
4. その他、目的を達成するために必要な事業

1. 会長：組織 4 部門の代表の輪番制とし、任期は 2 年とし、連続しての再任はなし。
2. 部門代表：各部門に所属する会員から選出する。部門代表の任期は 4 年とし、再任は妨げないが、連続 3 期までとする。
3. 事務局長：会長が選任することとし、任期は 2 年とし、再任は妨げない。

会員:

本研究会の目的に賛同して入会した個人を会員とする。会員は下記の組織の 4 部門のいずれかに所属する。

(入会)

入会希望者は、入会申込書を会長に提出し、各部門の代表の承認を得る。

(退会)

会員が退会しようとするときは、理由を付して退会届けを会長に提出する。

なお、会費を 2 年間未納した会員は自動的に退会とみなす。

(現在の役員)

会長: 帰山雅秀

遺伝学部門代表: 阿部周一

生態学部門代表: 帰山雅秀

生理学部門代表: 上田 宏

増殖資源部門代表: 永田光博

事務局長: 工藤秀明

(2010年12月17日現在)

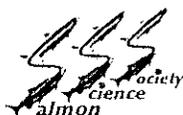
発表者連絡先（敬称略・発表順）

梶山雅秀	salmon@fish.hokudai.ac.jp	山本雄三	yuzo@fsc.hokudai.ac.jp
永田光博	nagata-mitsuhiro@hro.or.jp	三好晃治	miyoshi10@fsc.hokudai.ac.jp
宮腰靖之	miyakoshi-yasuyuki@hro.or.jp	吉水 守	yosimizu@fish.hokudai.ac.jp
阿部周一	abesyuu@fish.hokudai.ac.jp	林田寿文	hayashida0109@gmail.com
春日井潔	kasugai-kiyoshi@hro.or.jp	奥平暁敬	h3yambe@bioindustry.nodai.ac.jp
鄭 亮	dong589@hotmail.com	柳 蓉芸	mruni@fish.hokudai.ac.jp
山田 綾	shibakenmania@yahoo.co.jp	清水宗敬	mune@fish.hokudai.ac.jp
山本俊昭	tyamamoto@nvl.u.ac.jp	深谷厚輔	kosuke@fsc.hokudai.ac.jp
河村 博	kawamura@fishexp.pref.hokkaido.jp	今川聖士	h3yambe@bioindustry.nodai.ac.jp
虎尾 充	torao-mitsuru@hro.or.jp	鈴木 航	h3yambe@bioindustry.nodai.ac.jp

領 収 書

第4回サケ学研究会要旨集代として  
¥500-- を領収しました。

2010年12月18日



サケ学研究会事務局  
工藤秀明

サケ学研究会

会長：梶山雅秀  
遺伝学部門代表：阿部周一  
生態学部門代表：梶山雅秀  
生理学部門代表：上田 宏  
増殖資源部門代表：永田光博  
事務局長：工藤秀明  
(hidea-k@fish.hokudai.ac.jp)

事務局

〒041-8611 函館市港町3-1-1  
北海道大学大学院水産科学研究院  
水圏生態系保全学領域  
Tel/Fax 0138-40-5602

<http://www.geocities.jp/sakekenkyukai/index.html>

発行日：2010年12月18日  
発行所：サケ学研究会

